

## 顔面神経麻痺回復後の脳幹運動ニューロンの再構成

金沢大学医学部耳鼻咽喉科学講座 (主任: 古川 俊教授)

伊 藤 真 人

(平成5年2月10日受付)

実験的顔面神経麻痺回復後における, 表情筋支配神経核と顎二腹筋後腹支配神経核との再構成について, 二種類の逆行性トレーサーを用いる二重標識法で検討した. 成熟モルモットの側頭骨内顔面神経水平部を露出した上で, マイクロサージャリー用持針器にて5分間神経圧迫し顔面神経麻痺を作成した. 麻痺作成手術後4-7週間で麻痺は回復し, 逆行性トレーサーの注入は麻痺作成手術後4-22週目におこなった. 顔面表情筋である眼輪筋 (orbicularis oculi muscle), 口輪筋 (orbicularis oris muscle), もしくは顎部深部筋である顎二腹筋後腹 (posterior digastric muscle) に wheat germ-agglutinated horseradish peroxidase (WGA-HRP) を注入し, 側頭骨外顔面神経本幹には Fluoro-Ruby (FR) を取り込ませた. 2-3日間の生存期間をおき, 深麻酔下に灌流固定後凍結切片を作成し tetramethyl benzidine (TMB) 法にて HRP を発色反応させた後, 蛍光顕微鏡下に脳幹部を観察し正常例と比較検討した. その結果, 顔面神経麻痺回復後動物では顔面表情筋, 顎二腹筋後腹に注入した WGA-HRP は本来の局在部位に限局せず, 顔面神経主運動核内と副顔面神経核内に広く瀰漫性に観察された. また顔面神経本幹に取り込ませた FR は本来の局在部位である顔面神経主運動核に限局せず, 副顔面神経核にも標識ニューロンが認められた. このように顎二腹筋後腹神経と表情筋支配神経という支配神経核の異なる系においても神経障害後には正常なニューロン配列への復帰は起こらず, 神経線維の過誤再生 (misdirection) が起こることが証明された. さらに神経再生の早期段階では顎二腹筋後腹に注入した WGA-HRP と神経本幹に取り込まれた FR とで二重標識されるニューロンが多くみられた. これは神経再生過程でみられる多重発芽 (multiple sprouting) によるものと推定された.

**Key words** facial palsy, cranial motoneuron pools, plasticity, WGA-HRP, Fluoro-Ruby

顔面神経麻痺回復後の後遺症としてみられる表情筋間病的共同運動は, 麻痺後遺症の中でも最も発症頻度が高く臨床的に注目されている. また麻痺後, 表情運動時に耳鳴や軽度の難聴がみられる症例の存在も知られており, 病的共同運動は表情筋間ばかりではなく, 表情筋以外の顔面神経支配筋であるアブミ骨筋と表情筋との間にもみられるものであることが, 臨床的研究から示唆されている<sup>11-13</sup>. この表情筋-アブミ骨筋間病的共同運動は症状として現れる程の重症例は極わずかであるが, インピーダンス法を用いた検討では従来考えられていたよりもかなり高率に発症することが知られている<sup>4</sup>.

アブミ骨筋は顔面神経支配筋であるが, その支配神経核は顔面神経主運動核内には存在しない<sup>5-10</sup>. 同じように顔面神経支配筋でありながら, 顔面神経主運動核内に起始ニューロンをもたない筋として, 顎二腹筋後腹が知られている<sup>11-14</sup>. 顔面神経麻痺後の病的共同運動の原因としては, 障害神経再生過程における過誤再生 (misdirectional reinnervation, misdirection) と障害部位における髄鞘形成不全が主な要因と考えられ, 実験的にも逆行性トレーサー法等により麻痺回復後に各表情筋支配ニューロンの局在が変化すると報告がある<sup>15-17</sup>. しかし, それらの報告では機能的, 形態的に類似した筋の集団である表情筋間についてのみ検討されており, 局在の乱れは顔面神経主運動核内に限局していたと述べられている. しかし顎二腹筋後腹

やアブミ骨筋などの顔面神経系の筋でありながら, やや性格が異なり, しかも支配ニューロンが明かに顔面神経主運動核外にある系については不明であった.

Brunshart ら<sup>18</sup>は坐骨神経切断後のラット脛骨神経, および腓骨神経の再生が非特異的であることを証明しており, 従来末梢神経障害後に再生線維は無差別な標的結合をおこし, 過誤再生がみられるとされていたが<sup>19</sup>, 最近では前鋸筋などの骨格筋において神経切断後に選択的標的結合も起こりうるとの報告<sup>20-22</sup>もみられることから, このような異なる支配神経核をもつ顎二腹筋後腹と表情筋支配神経との間での神経支配の変化についての検討は興味ある問題である.

そこで, 今回モルモットをもちいて逆行性トレーサー法により実験的顔面神経麻痺回復後における支配筋対応ニューロンの局在変化について検討した.

### 対象および方法

実験動物は体重 300g から 600g の正常ハートレー系モルモットを使用した.

#### I. モルモット顔面神経運動ニューロン群の配列 (図1)

延髄腹側の顔面神経主運動核 (main facial nucleus, 7) の腹内側を中心とした周辺部にはアブミ骨筋運動核 (stapedial motoneurons, ST) がみられる<sup>5-10</sup>. 顔面神経主運動核のやや吻

Abbreviations: 6, abducens nucleus; 7, main facial nucleus; 7r, root of the facial nerve; 8r, root of the vestibulocochlear nerve; Acs7, accessory facial nucleus; Co, cochlear nuclei; FR, Fluoro-Ruby; HRP, horseradish peroxidase; g7, genu of the facial nerve; IAC, internal auditory canal; icp, inferior cerebellar

側背方で顔面神経脳内根下行部の内側部、三叉神経運動核に属する顎二腹筋前腹運動神経細胞群の尾側延長部に顎二腹筋後腹運動神経細胞が集合し、副顔面神経核 (accessory facial nucleus, Acs7) を形成している<sup>11)~14)</sup>。側頭骨内に入った顔面神経は水平部を過ぎた辺りでアブミ骨筋神経を分枝し、その後垂直部を経て側頭骨を出てすぐに後耳分枝 (posterior auricular branch, PA) と顎二腹筋後腹支配枝を分枝する。その他の顔面神経本幹は図1に示すように下口唇枝 (inferior labial branch, IL), 上口唇枝 (superior labial branch, SL), 頬骨枝 (zygomatico-orbital branch, ZO) 等の各分枝に分かれ、顔面表情筋に分布している。顔面表情筋や広顎筋等の表在筋の起始ニューロンは顔面神経主運動核内部に局限しているが、深部筋である顎二腹筋後腹 (posterior digastric muscle, PDG) やアブミ骨筋 (stapedial muscle, STM) の起始ニューロンは顔面神経主運動核の外にある。

## II. モルモット側頭骨内顔面神経へのアプローチ

頸部切開にて顎下腺と咬筋の間に剝離すると顎二腹筋の筋腹が露出する。これを切断もしくは圧排すると顎二腹筋後腹の裏に耳骨包 (tympanic bulla) が露出するので、この骨包をドリル等にて解放すると中下鼓室が開く。キヌタ骨を除去し顔面神経管水平部の薄い骨壁を取り除くと顔面神経が露出する。モルモットではラットとは異なり、顔面神経水平部に沿った動脈 (stapedial artery) は存在しないので、このアプローチで水平部の処置が可能である。この他に側頭骨内顔面神経に至るには耳介上方切開にて、上鼓室經由で顔面神経膝部、水平部に至る方法や、耳後部切開にて茎乳突孔から逆行性に顔面神経垂直部を露出する方法などがあるが、今回は前二者の方法を用いた。

## III. 麻痺動物の作成

ペントバルビタール (35.0mg/kg, i. p.) 全身麻酔下に1側の側頭骨内顔面神経を露出し、マイクロサージャリー用持針器

(S&T, BL-13-8, Neunausen, Switzerland) を用いて5分間神経圧迫した。顔面神経機能の経過観察は表情筋の動き、特に瞬目反射を中心におこなった。手術直後から全例に高度麻痺がみられ、手術後5-7週で麻痺の完全回復が確認された。

## IV. トレーサーの注入

逆行性トレーサー法による起始ニューロンの標識は麻痺作成後4週目から22週目までにおこなった。再びネプタール (35.0mg/kg, i. p.) 麻酔下に、wheat germ-agglutinated horseradish peroxidase (WGA-HRP, Toyobo, Osaka) を眼輪筋に注入したもの3例、口輪筋に注入したもの2例、顎二腹筋後腹に注入したもの6例について検討した。さらに、顎二腹筋後腹注入例では顎二腹筋後腹支配枝分岐後の側頭骨外顔面神経本幹 (下口唇枝分岐部) を切断の上、中枢端を Fluoro-Ruby (FR, Dextran, tetramethylrhodamine, Molecular probes, Inc., Eugene, USA) を満たしたシリコンチューブに留置した。

トレーサーの注入量は、4% WGA-HRP (0.05M Tris buffer, pH8.0溶液) を顔面表情筋、顎二腹筋後腹共に約2.0-3.0 $\mu$ l を分注し、10% FR (0.9% saline 溶液) は十分量をチューブに注入し神経断端をFRで満たした。注入に際しては空気圧微量注入装置 (Picospritzer, General Valve, Fairfield, USA) に接続した先端径10-20 $\mu$ m の微小ガラス電極 (Drummond Scientific Company, Broomall, USA) を用い、周囲に漏洩なきように注意した。

## V. トレーサー注入動物の固定

トレーサー注入後、2-3日間の生存期間をおきペントバルビタール深麻酔下に開胸し左心室より灌流固定をおこなった。灌流液には500-1000mlの8%ホルマリン-0.1%グルタルアルデヒド-0.1M リン酸緩衝液 (pH7.3) を用いた。灌流固定後ただちに脳組織を取り出し、20%ショ糖-0.1M リン酸緩衝液中に入れ、4℃にて浸透させた。その後、ミクロトーム (Reichert-Jung, Nussloch, Germany) を用いて厚さ33 $\mu$ mの前額断の連続凍結切片を作成し、不凍液中で-24℃にて保存した。

## VI. HRP の反応

Tetramethyl benzidine (TMB) 法<sup>23)</sup>にてHRP発色反応させた後、反応産物の安定化のためモリブデン酸アンモニウム溶液に浸した。各切片をゼラチン化スライドに貼り自然乾燥させ脱水、キシレン透徹し、封入剤 (M-X, 松浪硝子, Osaka) を用いてカバーガラスをかけたあと、ニコン社製蛍光顕微鏡下に脳幹部を観察し、WGA-HRP, FR標識細胞の分布を検討した。対比染色したものはNeutral-red染色をおこなった。一部の標本はStreit-Reubi法<sup>24)</sup>に従ったDiaminobenzidine (DAB) 法でHRP反応させ、Cresyl violetで対比染色をおこなった。

## VII. 対照群について

対照群としてモルモットの顔面神経主運動核、副顔面神経核の細胞構築をみるために、正常成熟モルモット2匹について厚さ50 $\mu$ mの脳幹部前額断切片を作成し、Cresyl violet染色にて顔面神経核周辺を観察した。また眼輪筋、口輪筋にそれぞれWGA-HRPを注入したものを各3匹、顎二腹筋後腹にWGA-HRPを注入し、側頭骨外顔面神経幹にFRを取り込ませ

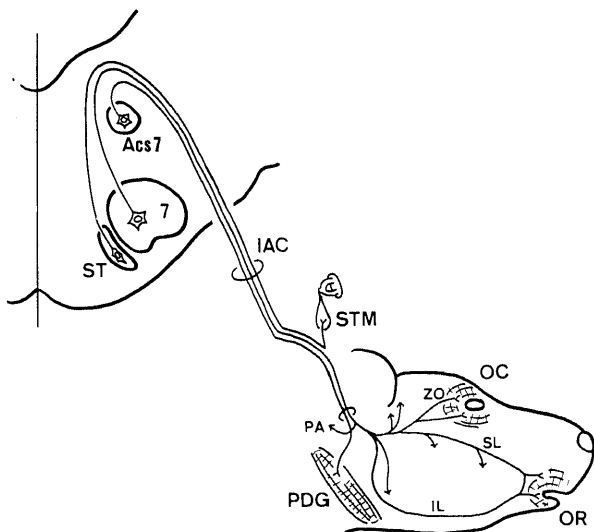
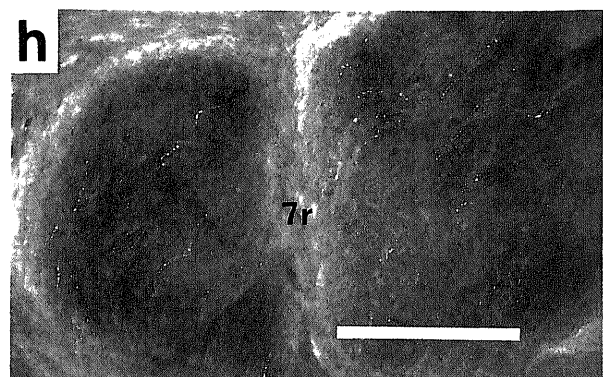
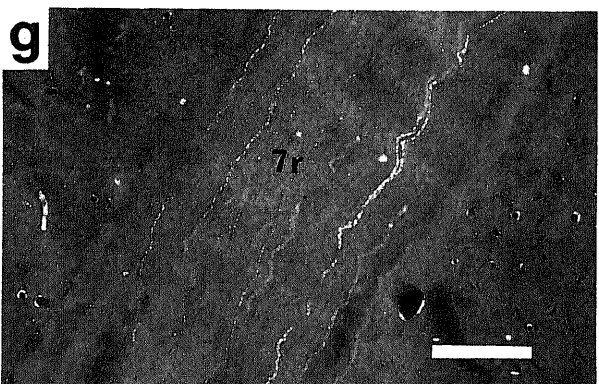
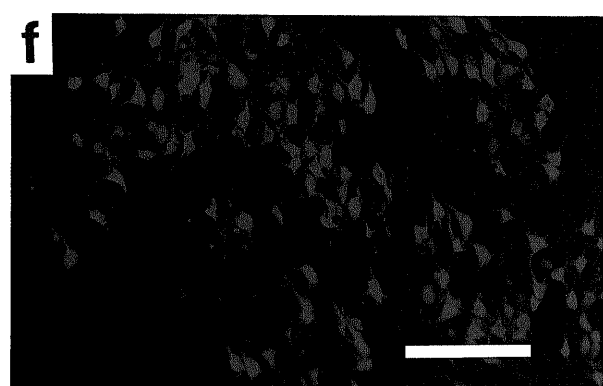
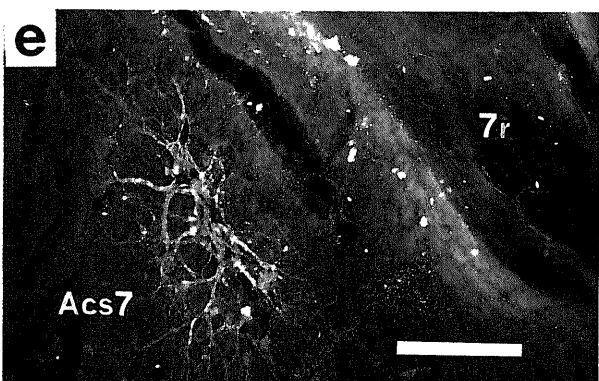
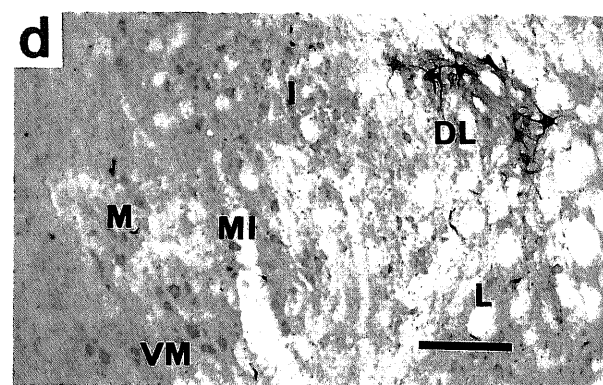
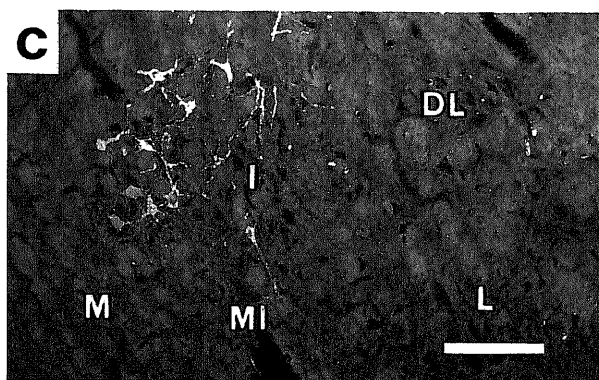
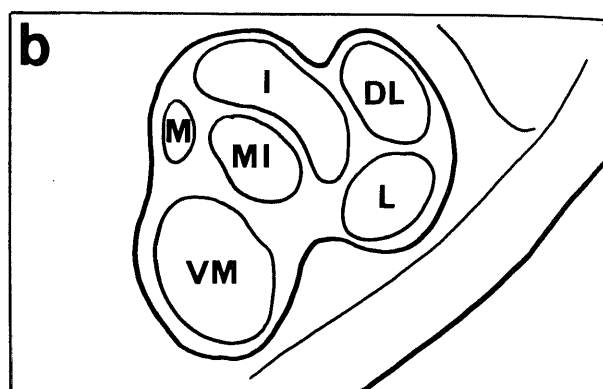
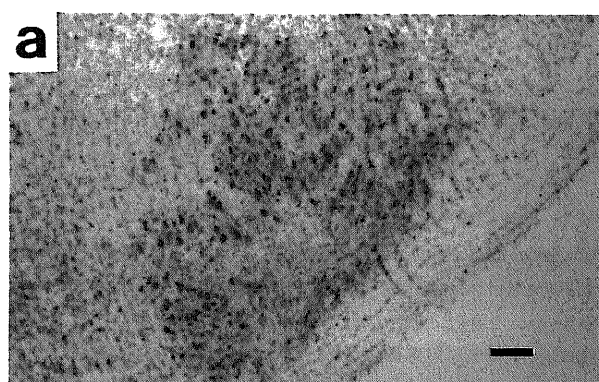


Fig. 1. Diagram of distribution of major branches of the facial nerve in guinea pig.

peduncle; IL, inferior labial branch; OC, orbicularis oculi muscle; OR, orbicularis oris muscle; PA, posterior auricular branch; PDG, posterior belly of the digastric muscle; Py, pyramidal tract; SL, superior labial branch; SO, superior olive; sp5, spinal trigeminal tract; sp5O, spinal trigeminal nucleus; ST, stapedial



motoneurons; STM, stapedial muscle; TMB, tetramethyl benzidine; Tz, nucleus of the trapezoid body; VeD, lateral vestibular nucleus; WGA-HRP, wheat germ-agglutinated horseradish peroxidase; ZO, zygomatico-orbital branch

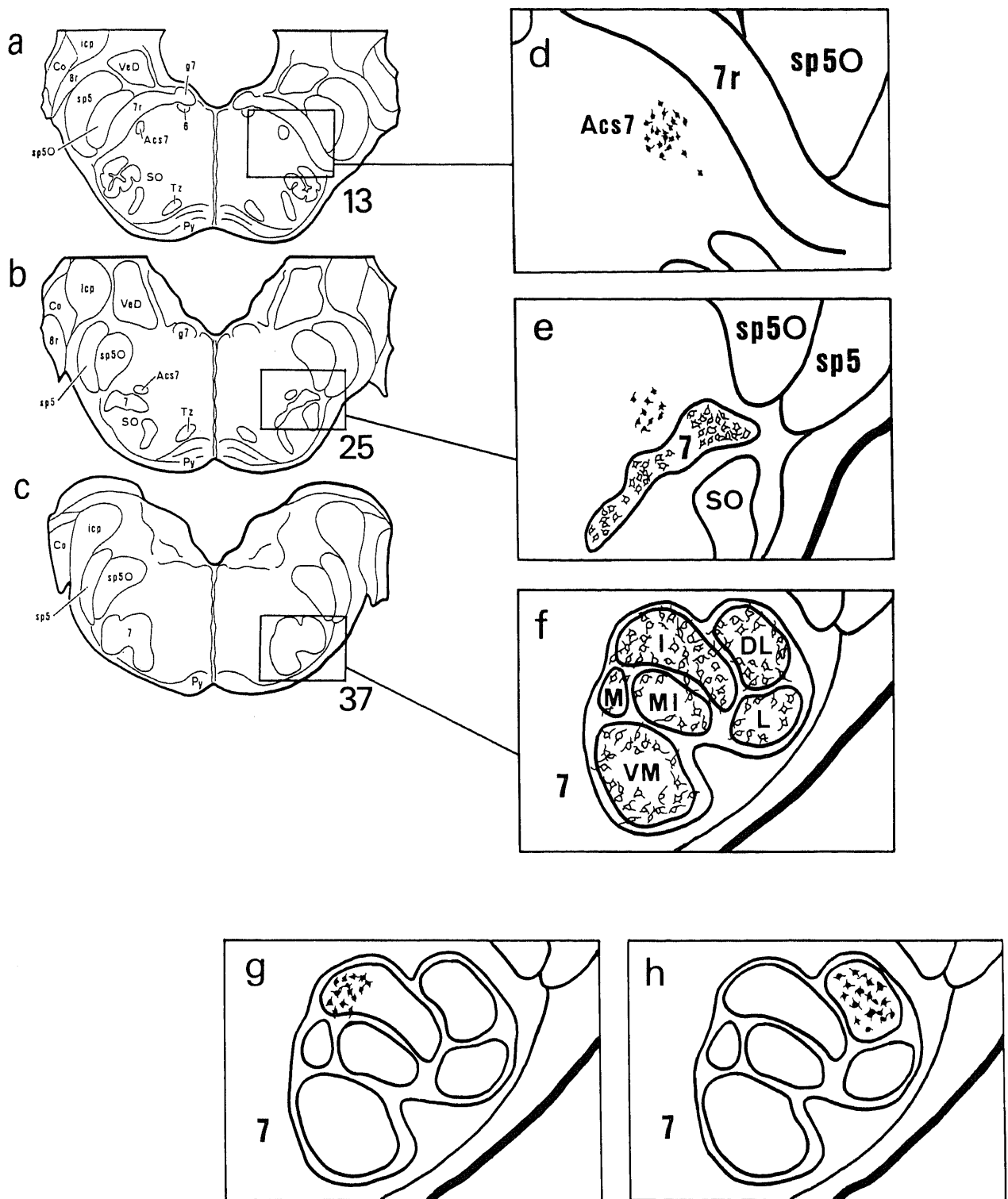


Fig. 3. Projection drawings of frontal sections through lower brainstem of guinea pig in control cases showing distribution of labeled neurons after WGA-HRP injection into PDG muscle (d, e), OR muscle (g) and OC muscle (h) and after Fluoro-Ruby application into facial nerve trunk (e, f).

Fig. 2. Photomicrographs of frontal sections (a, c, d, e, f, g) and horizontal section (h) through lower brainstem of guinea pig in control cases taken under bright-field (a, d) dark-field (c, e, g, h) and fluorescent (G filter) (f) illuminations. Cytoarchitectonically facial nucleus is divided into the dorsolateral (DL), intermediate (I), lateral (L), medial (M), medio-intermediate (MI) and ventromedial (VM) subdivisions (a, b). Distributions of labeled neurons are shown after WGA-HRP injection into OR muscle (c), OC muscle (d) and PDG muscle (e) and after Fluoro-Ruby application into facial nerve trunk (f). Distribution of labeled fibers is shown at descending portion of intra cranial facial nerve after WGA-HRP injection into OR and OC muscle (g, h). Bars=200  $\mu$ m

たもの3匹について、それぞれの支配神経細胞の局在を検討した。また口輪筋、眼輪筋に WGA-HRP を注入したもの各1匹について、脳幹部水平断切片を作成し、顔面神経脳内根における線維局在を観察した。

## 成 績

### I. 対照群について (図2, 3, 表1)

顔面神経主運動核は細胞構築学的におおよそ6つの亜核構造、すなわち内側 (medial), 内側中間 (medio-intermediate), 背外側 (dorsolateral), 外側 (lateral), 中間 (intermediate), 腹内側 (ventro-medial) の各亜核に分類される (図2-a, b)。しかしこれらの亜核構造は互いに入り組んでおり、境界の不明瞭な部分も少なくない。これらの細胞構築学的にみた亜核構造と各表情筋対応ニューロンとの関係を比較検討した。正常例の眼輪筋と口輪筋に各々 WGA-HRP を注入したところ、口輪筋では顔面神

経主運動核内の背内側部で中間亜核の一部に WGA-HRP 標識ニューロンの集団が観察された (図2-c, 図3-g)。眼輪筋注入例では顔面神経主運動核内の背外側で、ほぼ背外側亜核に一致して WGA-HRP 標識ニューロンが集団をなしていた (図2-d, 図3-h)。いずれも表情筋対応ニューロンにはおおよその局在部位があり、亜核構造とある程度の相関関係はあるものの、ニューロン集団の境界は不鮮明であった。

顎二腹筋後腹に WGA-HRP, 側頭骨外顔面神経本幹に FR を取り込ませた場合、WGA-HRP 標識ニューロンは副顔面神経核内に集団を形成するが (図2-e, 図3-d), 顔面神経主運動核内には標識ニューロンはみられなかった。一方、顔面表情筋支配ニューロンである FR 標識ニューロンは顔面神経主運動核内に無数みられたが (図2-f, 図3-f) 副顔面神経核等の顔面神経主運動核以外の部分には標識ニューロンは観察されなかった。

顔面神経脳内根を暗視野で観察すると、WGA-HRP をどの

Table 1. Number and distribution of WGA-HRP and Fluoro-Ruby labeled neurons in control cases

Case	WGA-HRP injected site	FR injected site	Number of HRP labeled neurons	Location of HRP labeled neurons and fibers	Location of FR labeled neurons
1	O. oris	—	—	Scattering in the root of the facial nerve (fibers)	—
2	O. oculi	—	—		
3	O. oris	—	118	Dorso-medial division of the main facial nucleus (neurons)	—
4	O. oris	—	172		
5	O. oris	—	161		
6	O. oculi	—	131	Dorso-lateral division of the main facial nucleus (neurons)	—
7	O. oculi	—	129		
8	O. oculi	—	157		
9	PDG	Facial nerve	184	Acs7	Main facial nucleus
10	PDG	Facial nerve	156	Acs7	
11	PDG	—	167	Acs7 (neurons)	
12	—	—	—	—	—
13	—	—	—	—	—

Table 2. Number (%) of WGA-HRP and Fluoro-Ruby labeled neurons in experimental cases

Case	WGA-HRP injected site	FR injected site	Synkinesis	Survival period after injury	Number of HRP labeled neurons	Number of FR labeled neurons	Number of double-labeled neurons (%)
14	O. oculi	—	+	12weeks	122	—	—
15	O. oculi	—	+	20w	143	—	—
16	O. oculi	—	+	22w	221	—	—
17	O. oris	—	+	6weeks	159	—	—
18	O. oris	—	+	15w	148	—	—
19	PDG	Facial nerve	+	4weeks	216 (total)	38 (in Acs7)	27 (12.5%)
20	PDG	Facial nerve	+	5w	205	66	31 (15.1%)
21	PDG	Facial nerve	+	7w	158	45	15 (9.5%)
22	PDG	Facial nerve	+	7w	194	50	14 (7.2%)
23	PDG	Facial nerve	+	12w	198	68	5 (2.5%)
24	PDG	Facial nerve	+	13w	162	39	1 (0.6%)

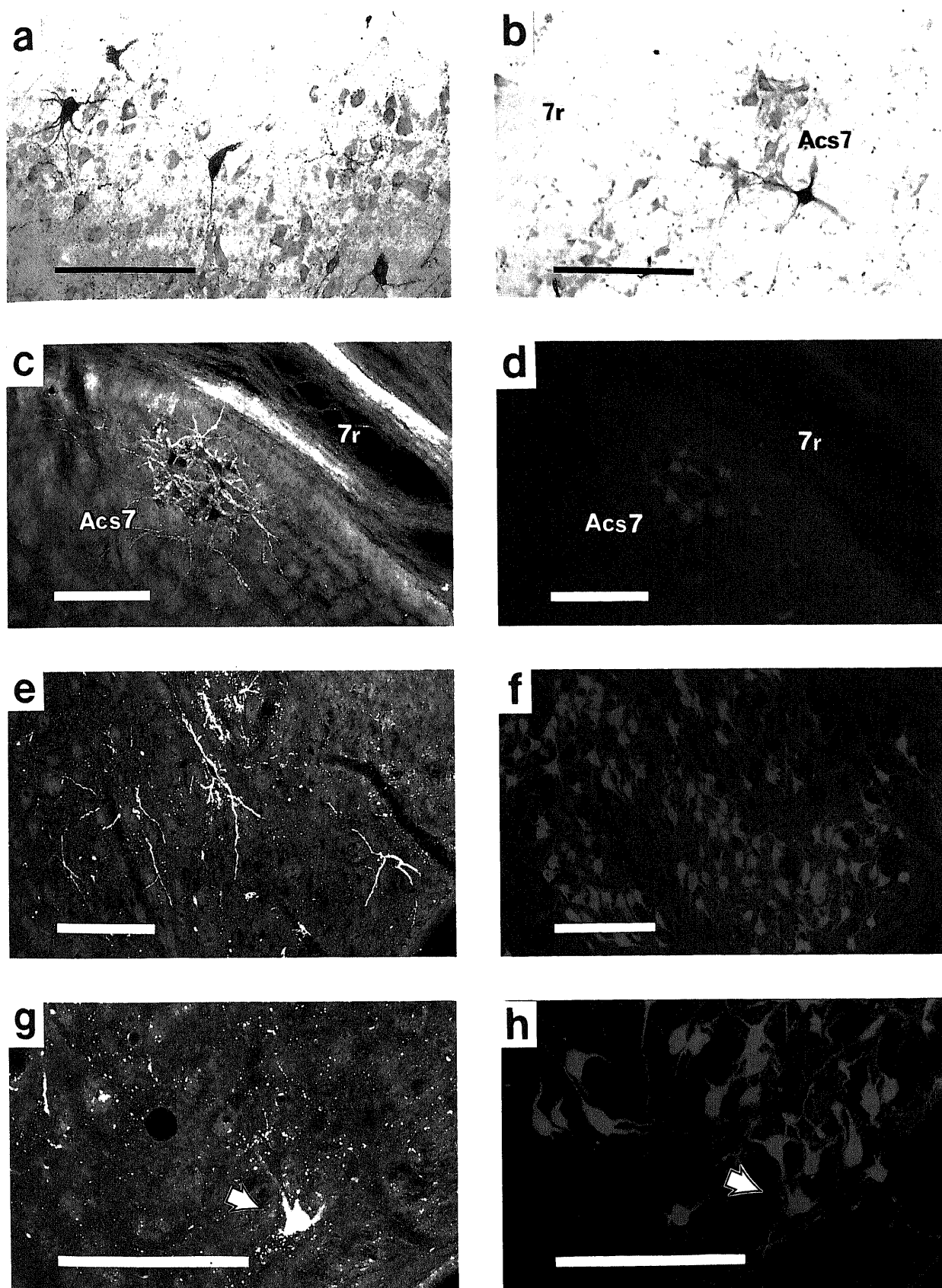


Fig. 4. Photomicrographs of frontal sections through lower brainstem in experimental cases taken under bright-field (a, b), dark-field (c, e, g) and fluorescent (G filter) (d, f, h) illuminations showing distribution of labeled neurons after WGA-HRP injection into OC muscle (a, b) and PDG muscle (c, e, g) and after Fluoro-Ruby application into facial nerve trunk (d, f, h). Double-labeled neurons are observed in early stage of regeneration (e. g. arrows in g, h). Bars=200  $\mu$ m



部分の支配筋に注入しても脳内根下行部では WGA-HRP 標識神経線維は、局在した線維束構造を示すことなく、神経根内に散在して認められた (図 2-g, h)。

## II. 麻痺回復群について (図 4, 表 2)

麻痺作成手術直後から閉眼は全く不能となり、瞬目反射も完全に消失した。耳介は下垂し、耳介、髭、鼻翼ともに自発運動はみられず、竹田ら<sup>26)</sup>によるモルモットの顔面神経機能評価基準の高度麻痺を呈した。手術後 3 週目を過ぎた頃から、角膜刺激時にわずかに眼瞼の動きがみられるようになり (中等度麻痺)、4 週目には耳介、眼瞼、髭にわずかに自発運動が観察された (軽度麻痺)。さらに 5-7 週目には全例に完全回復がみられた。実験には完全回復時に、瞬目反射に一致して患側の耳介、髭が同時に動く、病的共同運動を認めた動物 11 匹を使用した。これら麻痺回復群では顔面神経主運動核、副顔面神経核の細胞構築、亜核構造は対照群とほぼ同様の所見であった。また、顎二腹筋後腹に取り込まれた WGA-HRP 標識ニューロンが、顎二腹筋前腹の支配神経核である三叉神経運動核にも少数認められた以外には、どの部分に注入したトレーサーも麻痺作成手術側と同側の顔面神経主運動核や副顔面神経核等の顔面神経運動核群以外の部位 (脳幹網様体や反対側の顔面神経運動核領域など) には標識ニューロンはみられなかった。

### 1. 表情筋支配ニューロンの再構成について

眼輪筋もしくは口輪筋に WGA-HRP を注入した場合、麻痺作成後の生存期間に関わりなく WGA-HRP 標識ニューロンは顔面神経主運動核内に広く散在していた (図 4-a)。さらに顎二腹筋後腹支配神経核である副顔面神経核にも WGA-HRP 標識ニューロンが認められ (図 4-b)、対照群でみられた様な表情筋支配ニューロンのおおよその局在構造は消失していた。WGA-HRP 標識ニューロンの数は対照群では眼輪筋で 129-157 個、口輪筋で 118-172 個であったのに対し、麻痺回復後では眼輪筋で 122-221 個、口輪筋で 148-159 個であった。

### 2. 顎二腹筋後腹支配ニューロンの再構成について

顎二腹筋後腹に WGA-HRP を、側頭骨外顔面神経本幹に FR を取り込ませた場合、麻痺作成後の生存期間に関係なく、副顔面神経核部では WGA-HRP 標識ニューロンのみられる部位に一致して、FR 標識ニューロンがモザイク状に認められた (図 4-c, d)。一方、顔面神経主運動核内でも FR 標識ニューロンが多数集まってみられる中に WGA-HRP 標識ニューロンが散在して認められた (図 4-e, f)。WGA-HRP 標識ニューロンの数は対照群では 156-184 個であったのに対し、麻痺回復後では 158-216 個であった。

さらに麻痺作成後 4-5 週目の神経再生の比較的早期では、副顔面神経核、顔面神経主運動核部ともに標識ニューロンの一部に WGA-HRP と FR とで二重標識されるニューロンが認められた (図 4-g, h)。二重標識ニューロンの数は 27-31 個であり、WGA-HRP 標識ニューロン全体の 12.5-15.1% を占めていた。このような二重標識ニューロンは麻痺作成後 12 週以後の再生後期にはほとんど観察されなかった。

## 考 察

西洋ワサビから精製された HRP は、分子量約 40,000 の protohaemin を含む糖タンパクである。神経組織に注入された HRP はニューロンに取り込まれ、軸索流により輸送され、順行性に軸索とその終末を、逆行性に細胞体と樹状突起をラベル

する。La vail ら<sup>28)</sup>により神経系の線維連絡研究の手段として導入されて以来、HRP 法は多くの改良を加えられ今日に至っている。

HRP には数種類の isoenzyme、結合体があるが、今回の実験には神経組織での輸送能が良好なことから、小麦胚芽凝集素 (WGA) と HRP の結合体である WGA-HRP を使用した。

HRP の導入以来、種々の順行性、逆行性トレーサーが開発され線維連絡研究に利用されているが、今回の実験ではこれらのトレーサーのうち周囲への浸潤傾向の少ない FR を併用した。FR は蛍光色素である rhodamine と dextran の結合体で、順行性、逆行性の標識に用いられるが、筋に注入した場合 HRP や他の蛍光色素に比べて周囲への浸潤が少ない。今回は顔面神経切断端を FR に浸すことにより、全ての起始ニューロンを標識しながらも、チューブから漏れてたトレーサーが神経直下の咬筋などの周囲組織に取り込まれるのを最小限に抑えることができた。このように WGA-HRP と FR とで二重標識をおこなうことにより同一個体における、異なる二つの部位の支配筋対応ニューロン配列を同一切片上で検出することが可能となった。

### I. 顔面神経の正常局在構造について

#### 1. 顔面神経線維の局在構造について

顔面神経麻痺後遺症としてみられる病的共同運動の発症と関連して、側頭骨内外の顔面神経線維の走行が各顔面表情筋に対応した神経線維局在をもつか否かについては多くの報告がみられる。臨床的研究では側頭骨内外共に神経内線維局在があるとするものが多いのに対し<sup>27-30)</sup>、実験的研究、特に解剖学的研究では側頭骨内は線維局在をもたず、側頭骨外末梢部にいたってようやく線維局在が観察されると報告されているが<sup>31-33)</sup>、いまだ統一見解は得られていない。最近 Lee ら<sup>34)</sup>はネコの側頭骨内顔面神経を HRP 逆行性トレーサー法で詳細に検討し、垂直部末梢、特に鼓索神経分岐部より末梢側では線維局在を認めるが、これより中枢の側頭骨内顔面神経は線維局在をもたず、各線維がばらばらに神経幹内に散在してみられると報告している。しかしさらに近位の内耳道よりも中枢部について検討された報告はない。今回顔面神経脳内根について検討したが、明瞭な神経束として認められるようになる下行部では既に神経線維は神経束全体に散在しており局在構造はみられなかった。したがって、過去の解剖学的報告<sup>31-34)</sup>と合わせると顔面神経脳内根下行部から側頭骨内顔面神経垂直部上方までには神経線維の表情筋に対応する機能局在は存在しないと考えられる。

この様に非常に長い経路にわたって局在が無いことが、顔面神経麻痺回復後の神経線維間の過誤再生、ひいては病的共同運動を起し易くしている原因であると考えられる。

#### 2. 顔面神経主運動核の正常局在構造について

哺乳動物における顔面神経核の亜核構成や支配筋対応ニューロン配列に関する報告は、これまでネコ、マウス、ラット、モルモット、ウサギ等においてなされているが必ずしも一致した見解は得られていない。しかし全体的にみると、口唇や頬部の表情筋を支配する運動神経細胞は顔面神経主運動核内の外側に分布し、眼窩周辺の表情筋を支配する運動神経細胞は顔面神経主運動核内の背側よりに分布する傾向がみられる<sup>35-41)</sup>。しかしながら、ネコなどの比較的顔面神経の発達した動物種に比べ、ラットやモルモットではこの局在構造は不明瞭なところが少なくない。

Uemura-sumi ら<sup>42)</sup>はモルモットの顔面神経主運動核の亜核構

造と、神経細胞の局在について検討し、顔面神経主運動核は大きく6つの亜核に分けられると述べている。さらに、ニューロンの支配筋対応配列とこれら6つの亜核との位置関係について検討したところ、顔面神経主運動核の中央部を大きく占める、中間亜核、外側亜核、内側中間亜核の各ニューロン群は、末梢の上口唇枝と下口唇枝の両分枝を支配する細胞が混在しており、これらの亜核と末梢主要分枝間には明瞭な対応関係は存在しないと述べている。今回、末梢主要分枝ではなく表情筋（眼輪筋、口輪筋）に直接 WGA-HRP を注入し表情筋対応ニューロンの局在を調べたところ、口輪筋対応ニューロンは顔面神経主運動核の中間亜核の背側部を中心として集団をなしており、ここには上口唇枝と下口唇枝の両方の支配ニューロンが含まれていると考えられる（図 3-g）。一方、眼輪筋対応ニューロンは顔面神経主運動核の背外側亜核にはほぼ局限しており、この部分は頬骨枝支配ニューロンの局在部位に一致していた（図 3-h）。したがって他の動物種とは若干異なった支配筋対応配列がみられた。今回の検討により、支配筋対応ニューロン配列は亜核構造との明瞭な対応関係はみられないものの、ある程度の局在構造を持つことがわかった。しかしこれらの顔面表筋を支配する互いに類似した性格をもつニューロン群では局在構造の境界はあまり明瞭ではないのに対して、顎二腹筋後腹のような深部筋を支配するニューロンは顔面神経主運動核内には存在せずに、異なる領域に分布している。したがって麻痺回復後の支配ニューロンの再構成を論ずる場合にこれら顔面神経主運動核から距離的に隔離された位置にある神経核と、顔面神経主運動核との関係を見ることにより、局在の変化をより明確に把握することができる。特に末梢神経障害後に著明な神経細胞の減少と核の領域縮小がみられるような幼弱期では<sup>42)~45)</sup>、再生後に近隣ニューロン群の細胞構築が変化し亜核構造の判別が困難となるため、この様な互いに離れた神経核間での検討が有用である。

過去においても HRP 逆行性トレーサー法を用いて、実験的顔面神経麻痺回復後に表情筋対応ニューロン配列の変化について報告されているが<sup>15)~17)</sup>、それらはいずれも顔面神経主運動核内における局在構造の乱れについて検討したものであり、今回の様に顔面神経運動核群の一部でありながら、顔面神経主運動核内には存在しない副顔面神経核等との間で支配筋対応配列を検討した報告はみられなかった。

## Ⅱ. 末梢神経の変性と再生について（図 5）

Snider ら<sup>44)</sup>、Ziskind-Conhaim ら<sup>45)</sup>によれば、末梢神経障害により支配筋との連絡を絶たれた運動神経細胞は、未成熟な動物では著明な神経細胞の変性、消失がみられるが、成熟動物では運動神経細胞の消滅は比較的軽度であるという。また成熟動物では神経圧迫のみや、切断後再吻合し支配筋との間に線維連絡の再生がみられる場合には、細胞数の減少はほとんどみられないという<sup>46)</sup>。今回の結果でも、神経細胞の形態、核の領域等に麻痺前後で変化はみられなかった。

一般に末梢神経が障害されると、障害部位の中枢側では神経細胞に逆行性変性がおこる<sup>19)40)~48)</sup>。また中枢側の軸索と髄鞘の崩壊はランビエ結節一個のみに生じるのが普通<sup>47)</sup>であるが、損傷の強さによっては数結節に広がる可能性もある。障害部位の末梢側では全長にわたり Waller 変性が起こり軸索、髄鞘が崩壊する<sup>47)~50)</sup>。神経切断後最初の数日間に、中枢端の有髄軸索から末梢方向に向かい軸索先端より生ずる発芽や健全軸索部から生ずる側副発芽が多数出現する。その結果一本の終末軸索か

ら生じた多数の細い軸索発芽が末梢のシュワン細胞柱に進入するため、初期には末梢部の軸索総数は中枢部に比べかなり多い<sup>51)</sup>。やがていくつかの軸索が末梢器官と結合すると、その他の発芽軸索は退廃し、神経障害後 8-12 週頃に急速に減少し一本の軸索のみが生き残ることになる<sup>46)</sup>。このような標的への競合現象は神経系の再生時と同時に、発育段階でも認められる一般現象であるといわれる<sup>52)</sup>。運動ニューロンの場合、標的である筋は解剖学的に分散しており、運動ニューロンもどの筋を支配するのかサブタイプが発生初期に決定されてしまっている。そして発生途上の運動ニューロン軸索は、どの運動ニューロンも伸びることのできる“非特異的高速道路 (non specific highways)”を通り成長し、その分岐点において何等かの標的由来の栄養因子 (向神経物質) の働きにより、能動的な選択が行われることが示唆されている<sup>52)53)</sup>。

## Ⅲ. 表情筋対応ニューロンの再構成について（図 6A）

Radpour ら<sup>15)</sup>、Thomander<sup>16)</sup>は顔面神経麻痺回復後に表情筋対応ニューロンの局在に乱れがみられることを報告し、Brunshart ら<sup>18)</sup>は坐骨神経において、Mizuno ら<sup>54)</sup>は三叉神経において、Hardman ら<sup>55)</sup>は内助間筋において同様の報告をしている。このように従来成熟個体では、標的ごとに異なる向神経物質により最後に残る軸索が選択されるという可能性には懐疑的な報告が多かったが、近年 Sanes ら<sup>20)~22)</sup>は成熟個体でも末梢神経障害後に選択的な標的結合もおこることを報告しており、この問題は再び注目されている。

今回、実験的顔面神経麻痺回復後における表情筋対応ニューロンの変化を再検討した結果、眼輪筋や口輪筋等の顔面表情筋を支配するニューロンは局在を失い顔面神経主運動核内に標識ニューロンが散在して認められた。このことは顔面表情筋という類似の筋の間では神経障害後の選択的標的結合は起こらない事を示している。さらに、離れた部分にある副顔面神経核にも少数ではあるが標識ニューロンが散見されたことは興味深い（図 4-b、図 6A-a）。

顔面神経は側頭骨という長い骨管を通る特異な走行を示す神経であり、種々の原因で絞扼性神経障害が引き起こされ、顔面神経麻痺が発症する。顔面神経麻痺の約 60-70%<sup>48)56)</sup>を占める特発性顔面神経麻痺 (Bell 麻痺) はいまだ明確な発症原因は不明であるが、昨今の治療法の進歩により、現在 90% を越える治癒率が得られている<sup>57)58)</sup>。しかし麻痺回復後にみられる表情筋間病的共同運動、ワニの涙、顔面けい攣、拘縮等の後遺症に対しては有効な治療法が無い状態で、とくに病的共同運動は発症頻度が高く、臨床的に注目されている。

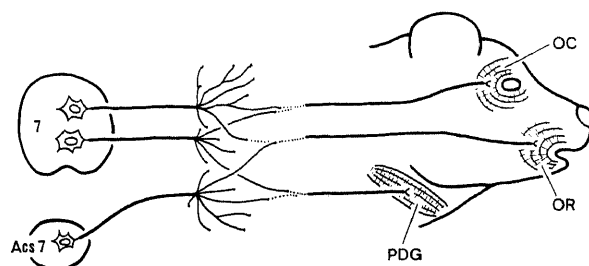


Fig. 5. Schematic diagram showing possible multiple sproutings occurred after the facial nerve injury. One axon may innervate many endoneurial tubes in the early stage of regeneration.



病的共同運動の発症機序については、障害神経再生過程における過誤再生によるとする説<sup>(16)(19)</sup>、核より上位の中樞レベルでの再構成によるとする説<sup>(16)(19)</sup>、障害部位で髄鞘形成不全により漏電が起こるとする説<sup>(10)</sup>、顔面神経核の細胞消滅により残存細胞が多重支配を行うとする説<sup>(10)</sup>など諸説あるが、現在のところ障害神経再生過程における過誤再生がその主要因と考えられている。過誤再生とは障害前とは別の標的を支配するシュワン細胞柱にはいった発芽軸索が最後に生き残った状態であり、麻痺回復後の神経細胞の支配筋対応配列の乱れも過誤再生によって起こると説明される。

最近、松本<sup>(17)</sup>は麻痺回復後に頬骨筋に注入した HRP でラベルされたニューロンが脳幹網様体に広く両側性にみられたことを報告し、顔面神経主運動核ニューロンの運動核前支配ニューロン (premotor neuron) がラベルされた可能性を示唆しているが、今回の検討ではより感度の高い方法 (WGA-HRP と

TMB 反応) を用いたにもかかわらず、その様な運動核前支配ニューロン様の標識細胞は観察されなかった。また三叉神経運動核や反対側の顔面神経主運動核内にも標識ニューロンは認められず、一般に成熟動物では顔面神経麻痺回復後の再構成は同側の顔面神経核群の内部のみでの現象であると考えられる。これに対して、比較的未成熟な動物では神経障害後に末梢の標的周辺の健全神経からの旺盛な側副枝の成長により、顔面神経麻痺後に三叉神経運動核や反対側の顔面神経主運動核由来神経による支配がみられる可能性がある。また未成熟な動物では神経障害後に選択的な神経再生が起こり、支配筋対応配列が維持されるとの報告<sup>(20)</sup>もあるが、少なくとも顔面神経系では生下時には既にこのような選択的な再生能を失っているとの結果を得ている。

IV. 顎二腹筋後腹対応ニューロンの再構成について (図 6B)  
麻痺回復後に表情筋支配ニューロンが顔面神経主運動核内ば

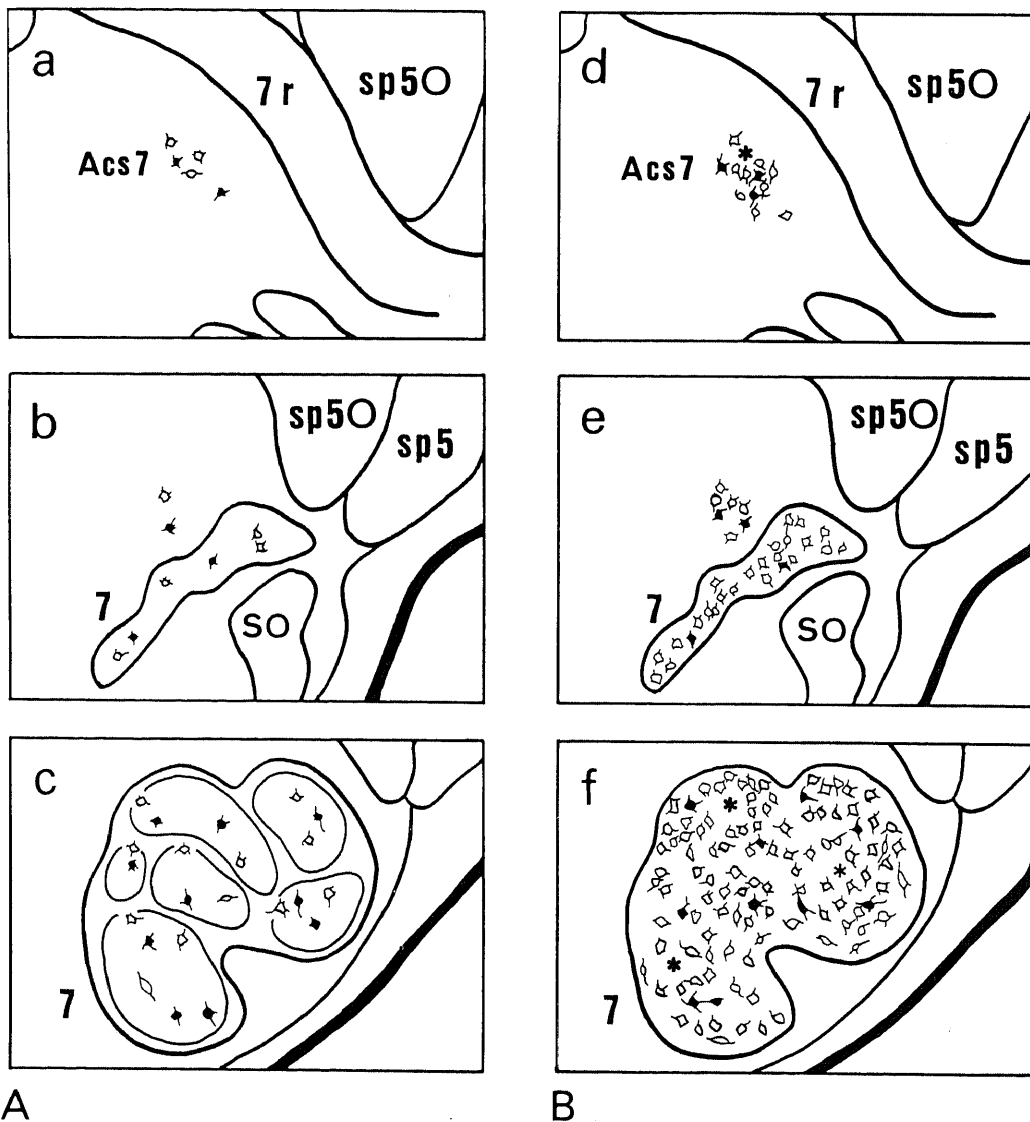


Fig. 6. Projection drawings in experimental cases. A: Distributions of labeled neurons after WGA-HRP injection into OR muscle (black) and into OC muscle (white). B: Distributions of labeled neurons after WGA-HRP injection into PDG muscle (black) and after Fluoro-Ruby application into facial nerve trunk (white). Double-labeled neurons (stars) are observed in early stage of regeneration.

かりではなく副顔面神経核にも観察されたと同様に、本来副顔面神経核領域に局限し、顔面神経主運動核内には起始ニューロンをもたないはずの顎二腹筋後腹支配ニューロンが顔面神経主運動核内に散在して認められた。また側頭骨外顔面神経本幹に取り込まれたFRでラベルされたニューロンは顔面神経主運動核内ばかりではなく、副顔面神経核部にも多数び慢性に観察された。このことは表情筋線維間でみられた過誤再生が、顎二腹筋後腹と表情筋との神経線維間でも生じていることを示している。この様に同じ顔面神経系の筋でありながら形態的、機能的に性格が異なり、さらに支配神経核をも異にする系でも選択的神経再生・標的結合は起こらないことが立証された。また顎二腹筋後腹と同様に顔面神経主運動核内に起始ニューロンをもたないアブミ骨筋においても、麻痺回復後には顔面神経主運動核や副顔面神経核との間で支配ニューロンの局在の乱れがみられるとの結果を得ている。

さらに麻痺回復後4-5週目の再生早期例では、WGA-HRPとFRとで二重標識されるニューロンが散見された(表2)。このことは再生初期の軸索では多重発芽により一本の中樞軸索が顎二腹筋後腹へ向かう軸索と顔面表情筋へ向かう軸索を同時に支配していると考えられる。過去の報告では、このような再生早期での検討はなされておらず、また二重標識法を今回用いたことにより、はじめて多重発芽を逆行性トレーサー法で検出することができた。再生開始後12週を過ぎると、標的への競合により生き残る軸索の数が減少するため、ほとんどの二重標識ニューロンが消失するものと考えられる。

## 結 論

実験的顔面神経麻痺回復後における脳幹運動ニューロンの再構成について、二種類の逆行性トレーサーを用いる二重標識法で検討したところ、以下の結論を得た。

1. 正常モルモットを用い、顔面表情筋支配ニューロン配列と顔面神経主運動核内の垂核構造との関係を検討したところ、各表情筋ごとの支配ニューロン局在の境界は不明瞭で、垂核構造との明瞭な対応関係は認められなかった。
2. 正常例の顔面神経脳内根の神経線維局在について検討したところ、脳内根下行部では既に線維局在はみられなかった。末梢部の神経線維局在に関する過去の報告と総合すると、脳内根下行部から側頭骨内顔面神経垂直部上方までには各表情筋ごとの神経線維局在は存在しないことが明らかとなった。
3. 実験的顔面神経麻痺回復後では、表情筋支配ニューロン、顎二腹筋後腹支配ニューロンはいずれも本来の支配筋対応配列を失い、顔面神経主運動核部と副顔面神経核部に一様に散在して認められた。これは障害神経再生過程で起こる神経線維の過誤再生によるものと考えられる。このように神経核を異にし、支配筋の解剖学的、生理学的性格も異なる運動ニューロン系でも神経障害後の正常なニューロン配列への復帰は起こらないことが明らかとなった。
4. 実験的顔面神経麻痺回復後の、表情筋群支配ニューロン配列と顎二腹筋後腹支配ニューロン配列を二重標識法を用いて検討したところ、神経再生の早期にはかなりの数の二重標識ニューロンがみられた。これは神経再生過程でみられる軸索多重発芽によるものであると推測される。これらの二重標識ニューロンは神経障害後12週目を過ぎるとほぼ消失した。
5. 顔面神経麻痺回復後にみられる運動ニューロン配列の変

化は、成熟動物では同側の顔面神経核群(顔面神経主運動核、副顔面神経核、アブミ骨筋運動核)の運動ニューロンの範囲内でのみ認められる現象であり、その他の脳神経核や脳幹網様体等に標識ニューロンはみられなかった。

## 謝 辞

稿を終えるに臨み、御指導と御校閲を賜りました恩師古川 侃教授ならびに、終始直接の御教示、御指導をいただきました金沢大学医学部第3解剖学教室の工藤 基教授に深甚なる謝意を表します。また貴重な御助言を賜りました金沢大学医学部耳鼻咽喉科岡部陽三博士、第3解剖学教室森泉哲次助教授に深謝いたします。さらに多大なる御協力をいただいた金沢大学医学部耳鼻咽喉科学教室、並びに金沢大学医学部第3解剖学教室の皆様に感謝いたします。

## 文 献

- 1) 奥野秀次: アブミ骨筋性耳鳴の成因に関する研究. *Audiol. Jpn.*, 26, 618-629 (1983).
- 2) Yamamoto, E., Nishimura, H. & Iwanaga, M.: Tinnitus and/or hearing loss elicited by facial mimetic movement. *Laryngoscope*, 95, 966-970 (1985).
- 3) McFerran D. C., Baguley, D. & Moffat, D. A.: Aberrant reinnervation of the stapedius muscle following facial palsy. *J. Laryngol. Otol.*, 103, 205-206 (1989).
- 4) 伊藤真人, 岡部陽三, 滝元 徹, 古川 侃: 顔面神経麻痺後のアブミ骨筋病的共同運動. *耳鼻臨*, 85, 1915-1918 (1992).
- 5) Lyon, M. J.: The central location of the motor neurons to the stapedius muscle in the cat. *Brain Res.*, 143, 437-444 (1978).
- 6) Shaw, M. D. & Baker, R.: The location of stapedius and tensor tympani motoneurons in the cat. *J. Comp. Neurol.*, 216, 10-19 (1983).
- 7) Joseph, M. P., Guinan, JR. J. J., Fullerton, B. C., Norris, B. E. & Kiang, N. Y. S.: Number and distribution of stapedius motoneurons in cats. *J. Comp. Neurol.*, 232, 43-54 (1985).
- 8) 大柿 徹, 仲 博美, 奥野秀次, 渡辺 勲: アブミ骨筋及び鼓膜張筋支配運動神経細胞の脳幹における局在について (H-RP法を用いて). *日耳鼻会報*, 89, 872-880 (1986).
- 9) Sturtz, J., Munker, G. & Zollner, C.: The motor innervation of the tympanic muscles in the guinea pig. *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 245, 108-111 (1988).
- 10) Shibayama, H., Sakai, T. & Tohro, T.: Central distribution of the stapedius motoneurons in the rat-A study of topographical anatomy and HRP transport experiments. *Acta Anat. Nippon.*, 65, 120-133 (1990).
- 11) Mizuno, N., Konishi, A. & Sato, M.: Localization of masticatory motoneurons in the cat and rat by means of retrograde axonal transport of horseradish peroxidase. *J. Comp. Neurol.*, 164, 105-116 (1975).
- 12) Matsuda, K., Uemura, M., Takeuchi, Y., Kume, M., Matsushima, R. & Mizuno, N.: Localization of motoneurons innervating the posterior belly of the digastric muscle: A comparative anatomical study by the HRP method. *Neurosci. Lett.*, 12, 47-52 (1979).
- 13) Shohara, E. & Sakai, A.: Localization of motoneuro-

- ns innervating deep and superficial facial muscles in the rat: A horseradish peroxidase and electrophysiologic study. *Exp. Neurol.*, **81**, 14-33 (1983).
- 14) Uemura-Sumi, M., Satoda, T., Tashiro, T., Matsushima, R. & Mizuno, N.: Re-examination of the topographical distribution of motoneurons innervating the digastric muscle in the rabbit and guinea pig. *Anat. Anz.*, **173**, 9-16 (1991).
  - 15) Radpour, S. & Gacek, R. R.: Facial nerve nucleus in the cat. Further study. *Laryngoscope*, **90**, 685-692 (1980).
  - 16) Thomander, L.: Reorganization of the facial motor nucleus after peripheral nerve regeneration. A HRP study in the Rat. *Acta Otolaryngol.*, **97**, 619-626 (1984).
  - 17) 松本浩司: 実験的顔面神経麻痺回復後の神経細胞の観察. *日耳鼻会報*, **95**, 373-380 (1992).
  - 18) Brunshart, T. M. & Mesulam, M. M.: Alteration in connections between muscle and anterior horn motoneurons after peripheral nerve repair. *Science*, **208**, 603-605 (1980).
  - 19) Crumley, R. L.: Mechanisms of synkinesis. *Laryngoscope*, **89**, 1847-1854 (1979).
  - 20) Wigston, D. J. & Sanes, J. R.: Selective reinnervation of adult mammalian muscle by axons from different segmental levels. *Nature*, **299**, 464-467 (1982).
  - 21) Wigston, D. J. & Sanes, J. R.: Selective reinnervation of intercostal muscles transplanted from different segmental levels to a common site. *J. Neurosci.*, **5**, 1208-1221 (1985).
  - 22) Laskowski, M. B. & Sanes, J. R.: Topographically selective reinnervation of adult mammalian skeletal muscles. *J. Neurosci.*, **8**, 3094-3099 (1988).
  - 23) Mesulam, M.-M.: Tetramethyl benzidine for horseradish peroxidase neurohistochemistry: A non-carcinogenic blue reaction product with superior sensitivity for visualizing neural afferents and efferents. *J. Histochem. Cytochem.*, **26**, 106-117 (1978).
  - 24) Streit, R. & Reubi, J. C.: A new and sensitive staining method for axonally transported horseradish peroxidase (HRP) in the pigeon visual system. *Brain Res.*, **126**, 530-537 (1977).
  - 25) 竹田泰三, 小椋謙一, 斎藤春雄, 竹田節子: 虚血性顔面神経麻痺モデル動物. *耳鼻臨*, **85**, 1829-1836 (1992).
  - 26) LaVail, J. H. & LaVil, M. M.: The retrograde intraaxonal transport of horseradish peroxidase in the chick visual system: A light and electron microscopic study. *J. Comp. Neurol.*, **157**, 303-358 (1974).
  - 27) May, M.: Anatomy of the facial nerve (spatial orientation of fibers in the temporal bone). *Laryngoscope*, **83**, 1311-1329 (1973).
  - 28) Podvinec, M. & Pfaltz, C. R.: Studies on the anatomy of the facial nerve. *Acta Otolaryngol.*, **81**, 173-177 (1976).
  - 29) Crumley, R. L.: Spatial anatomy of facial nerve fibers. A preliminary report. *Laryngoscope*, **90**, 274-280 (1980).
  - 30) Kempe, L. G.: Topical organization of the distal portion of the facial nerve. *J. Neurosurg.*, **52**, 671-673 (1980).
  - 31) Thomander, L., Aldskogius, H. & Grant, G.: Motor fiber organization in the intratemporal portion of cat and rat facial nerve studied with the horseradish peroxidase technique. *Acta Otolaryngol.*, **93**, 397-405 (1982).
  - 32) Gacek, R. R. & Radpour, S.: Fiber orientation of the facial nerve: an experimental study in the cat. *Laryngoscope*, **92**, 547-556 (1982).
  - 33) Murakami, S., Yanagihara, N., Matsumoto, Y. & Okamura, H.: Experimental studies of the facial nerve. Orientation of stapedial nerve fibers in the facial nerve trunk. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.*, **93**, 3-6 (1984).
  - 34) Lee, S. H., Ito, J. & Yamamoto, E.: A horseradish peroxidase study of the fiber orientation in the facial nerve. *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.*, **248**, 366-369 (1991).
  - 35) Kume, M., Uemura, M., Matsuda, K., Matsushima, R. & Mizuno, N.: Topographical representation of peripheral branches of the facial nerve within the facial nucleus: A HRP study in the cat. *Neurosci. Lett.*, **8**, 5-8 (1978).
  - 36) Radpour, S. & Gacek, R.: Facial nerve nucleus in the cat. Further study. *Laryngoscope*, **90**, 685-692 (1980).
  - 37) Ashwell, K. W.: The adult mouse facial nerve nucleus: Morphology and musculotopic organization. *J. Anat.*, **135**, 531-538 (1982).
  - 38) Hinrichsen, C. F. L. & Watson, C. D.: The facial nucleus of the rat: Representation of facial muscles revealed by retrograde transport of horseradish peroxidase. *Anat. Rec.*, **209**, 407-415 (1984).
  - 39) Klein, B. G. & Rhoades, R. W.: Representation of whisker follicle intrinsic musculature in the facial motor nucleus of the rat. *J. Comp. Neurol.*, **232**, 55-69 (1985).
  - 40) Uemura-Sumi, M., Manabe, Y., Matsushima, R. & Mizuno, N.: Correlation of the main peripheral branches of the facial nerve with the cytoarchitectonic subdivisions of the facial nucleus in the guinea pig. *Anat. Embryol.*, **174**, 161-166 (1986).
  - 41) Baisden, R. H., Woodruff, M. L., Whittington, D. L., Baker, D. C. & Benson, A. M.: Cells of origin of the branches of the facial nerve: A retrograde HRP study in the rabbit. *Am. J. Anat.*, **178**, 175-184 (1987).
  - 42) Aldskogius, H. & Thomander, L.: Selective reinnervation of somatotopically appropriate muscles after facial nerve transection and regeneration in the neonatal rat. *Brain Res.*, **375**, 126-134 (1986).
  - 43) Sendtner, M., Kreutzberg, G. W. & Thoenen, H.: Ciliary neurotrophic factor prevents the degeneration of motor neurons after axotomy. *Nature*, **345**, 440-441 (1990).
  - 44) Snider, W. D. & Thandedar, S.: Targetdependence of hypoglossal motor neurons during development and in maturity. *J. Comp. Neurol.*, **279**, 489-498 (1989).
  - 45) Ziskind-Conhaim, L. & Presley, S.: Reinnervation of developing rat muscle by non-axotomized motoneurons. *J. Comp. Neurol.*, **313**, 725-734 (1991).

- 46) 佐々木研一: 顔面神経損傷後における神経・筋単位の再生過程に関する実験的研究. 歯科学報, 83, 249-277 (1983).
- 47) 斎藤春雄: 顔面神経の変性と再生. 耳鼻・頭頸部外科 MOOK No. 13. 顔面神経麻痺 (野村恭也, 本庄 巖, 柳原尚明編), 第1版, 25-31 頁, 金原出版, 東京, 1989.
- 48) 斎藤春雄: 末梢性顔面神経障害. 耳鼻臨, 78, 2715-2724 (1983).
- 49) 隈上秀伯, 小川 明: 実験的顔面神経麻痺. 顔面神経障害 (小池吉郎, 柳原尚明, 隈上秀伯編), 第1版, 47-53 頁, 現代医療社, 東京, 1984.
- 50) Sunderland, S.: Basic anatomical and pathophysiological changes in facial nerve paralysis. In M. D. Graham & W. F. House (eds), Disorders of the Facial Nerve, 1st ed., p67-74, Raven Press, New York, 1982.
- 51) 原田康夫, 伊藤 衛: 顔面神経の病理, 耳鼻・頭頸部外科 MOOK No. 13. 顔面神経麻痺 (野村恭也, 本庄 巖, 柳原尚明編), 第1版, 43-50 頁, 金原出版, 東京, 1989.
- 52) 田中英明: 運動ニューロンの発生. 実験医学増刊 Vol. 9 No. 7 発生. 分化から形態形成へ. (松村 喬, 鍋島陽一, 安田 国雄, 山村研一編), 第1版, 759-763 頁, 羊土社, 東京, 1991.
- 53) Landmesser, L.: The development of specific motor-pathways in the chick embryo. Trends Neurosci., 7, 336-339 (1984).
- 54) Mizuno, N., Uemura-Sumi, M., Matsuda, K., Takeuchi, Y. & Matsushima, R.: Non-selective distribution of hypoglossal nerve fibers after section and resuture: A horseradish peroxidase study in the cat. Neurosci. Lett., 19, 33-37 (1980).
- 55) Hardman, V. J. & Brown, M. C.: Accuracy of reinnervation of rat internal intercostal muscles by their own segmental nerves. J. Neurosci., 7, 1031-1036 (1987).
- 56) 玉置弘光, 松永 亨: 顔面神経障害の統計. 顔面神経障害 (小池吉郎, 柳原尚明, 隈上秀伯編), 第1版, 203-213 頁, 現代医療社, 東京, 1984.
- 57) Stennert, E.: Bell's palsy-A new concept of treatment. Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg., 225, 265-268 (1979).
- 58) Stennert, E.: New concept in the treatment of Bell's palsy. In M. D. Graham & W. F. House (eds.), Disorders of the facial nerve, 1st ed., p313-317, Raven Press, New York, 1982.

**Reorganization of the Cranial Motoneuron Pools after Facial Nerve Injury** Makoto Ito, Department of Oto-Rhino-Laryngology, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Jusen Med Soc., **102**, 248—259 (1993)

**Key words** facial palsy, cranial motoneuron pools, plasticity, WGA-HRP, Fluoro-Ruby

#### Abstract

To study the process of recovery from facial palsy, the regeneration of the facial motor and accessory facial nuclei were examined using the retrograde tracing methods in the guinea pig of which the facial nerve had been surgically injured. After the intratemporal portion of the facial nerve was exposed and crushed for 5 minutes using a microsurgical needle holder, the animals were allowed to survive for 4-22 weeks. All of the experimental animals had recovered from facial palsy within 4-7 weeks after facial nerve injury. In these treated animals, wheat germ-agglutinated horseradish peroxidase (WGA-HRP) was injected into the facial mimetic muscles (orbicularis oculi and orbicularis oris muscle) and posterior digastric muscle, while Fluoro-Ruby was applied into the extra temporal portion of the facial nerve. Following a survival period of 2-3 days, the guinea pigs were deeply anesthetized and perfused transcatheterially, and cut in the frontal plane on a freezing microtome. The sections were treated for HRP histochemistry with tetramethyl benzidine (TMB), and observed under a fluorescent photomicroscope, and distribution of neurons labeled with WGA-HRP and/or Fluoro-Ruby was examined and compared with that in the control cases. In the treated animals, the normal somatotopical organization was not maintained, and the labeled neurons were scattered in the main facial nucleus and the accessory facial nucleus. In the early stage of regeneration, there were a number of double-labeled neurons containing WGA-HRP and Fluoro-Ruby. These results indicated that misdirectional reinnervation and multiple sprouting of regenerated nerve fibers to their target muscles occurred after facial nerve injury.